Gedruckt mit Unterstützung aus dem Jerome und Margaret Stonborough-Fonds

Über den Einfluß des Substrats und einiger anderer Faktoren auf Leuchten und Wachstum von *Mycelium x* und *Agaricus melleus*

Von

Friedrich Bothe

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Wien
Nr. 283 der zweiten Folge)

(Vorgelegt in der Sitzung am 12. Juli 1928)

A. Allgemeiner Teil.

1. Einleitendes.

Literatur.

Das magische Leuchten des Holzes hat schon früh das Interesse der Menschen gefesselt. Eine umfassende Literaturangabe über die wissenschaftliche Bearbeitung dieser Erscheinung gibt Molisch[1] in seiner Schrift »Leuchtende Pflanzen«.

Aus seinen zahlreichen, hier niedergelegten Versuchen folgerte er, daß das Leuchten des Holzes in Mitteleuropa fast immer auf die Anwesenheit des Pilzes *Agaricus melleus* beruhe. Doch konnte er noch einen zweiten aus dem Holz herauszüchten: das *Mycelium x*, das seinen Namen trägt, weil seine Fruktifikationsform und damit seine systematische Stellung bis heute unbekannt blieb.

Die zweite große, selbständig Licht ausstrahlende Pflanzengruppe sind die Leuchtbakterien. Hier ist die Forschung über Physik und Chemie des Lichtes, »Zweck« des Leuchtens, Abhängigkeit von Außenfaktoren usw. von Molisch[2] angebahnt, angeregt und zusammengefaßt, sehr weit fortgeschritten; über die Leuchtpilze aber ist in dieser Hinsicht verhältnismäßig wenig gearbeitet worden.

Die folgende Arbeit soll einen Versuch darstellen, diese Lücke, wenn auch nicht auszufüllen, so doch teilweise zu ergänzen. Bei der Stellung der Fragen hielt ich mich an die Erfahrungen, die bei den Leuchtbakterien gemacht worden waren. Außerdem hatte ich die stete und reiche Anregung meines hochverehrten Lehrers, Herrn Hofrat Prof. Dr. Molisch, und es sei mir gestattet, an dieser Stelle ihm für seine Mühe, Arbeit und Förderung meinen ergebensten und herzlichsten Dank auszusprechen.

Benutzte Literatur.

1. Hans Molisch, Leuchtende Pflanzen. Verl. Fischer, Jena, II. Aufl., 1912.
2. G. Zirpolo, Botanical abstracts, Vol. 14, 1925, 1133.
3. A. Pratje. Das Leuchten der Organismen. Ergebnisse der Physiologie von Asher und Spiro, Bd. 21, München, Bergmann, 1923.

[1] Molisch, Leuchtende Pflanzen. Verl. Fischer, Jena, VI. Aufl., 1912, p. 27 ff.
[2] Derselbe, p. 57 bis Schluß.

4. Gustav Klein. Die Lichtentwicklung der Pflanze, aus: Handbuch der patholog. Physiologie. J. Springer, Berlin, 1928.

Oswald Richter, Bakterienleuchten »ohne Sauerstoff«? Festschrift für Hans Molisch, Verl. Springer, Berlin 1926, »Planta«.

2. Methodik.

a) Bestimmung der Leuchtstärke.

Der Bestimmung der verschiedenen Helligkeitsstufen des Pilzlichtes lag keine physikalisch photometrische Methode zugrunde, sondern die Beurteilung erfolgte rein nach dem Augenschein. Um nicht durch Vorurteile beeinflußt zu werden, die sich von früheren, beziehungsweise aus der Fragestellung des Versuchs erwarteten Ergebnissen herleiten, wurden sämtliche jeweils zu untersuchenden Kulturen wahllos miteinander gemischt und mit ausgeruhtem Auge im Dunkeln beobachtet. Nach Ausscheidung der nicht leuchtenden Kulturen suchte ich unter den zurückgebliebenen das am stärksten und schwächsten leuchtende Stück heraus — die ja wegen des großen Intensitätsunterschiedes verhältnismäßig leicht zu bestimmen waren — und ordnete dann die übrigen zwischen diesen beiden Grenzen an.

Der große Nachteil einer Bestimmung von Lichtstärken nach dem bloßen Augenschein besteht in der Subjektivität des menschlichen Auges an und für sich. Weiter ist es sehr schwierig, Helligkeiten, die von verschieden großen Lichtquellen ausgehen, gegeneinander genau abzuwägen. Schließlich war es oft nötig, während der Untersuchung mehrfach das Lampenlicht ein- und auszuschalten. Daß durch diesen dauernden Wechsel von Hell und Dunkel die Urteilskraft des Auges stark beeinträchtigt wird, liegt klar auf der Hand.

b) Maßeinheiten.

Alle angewandten Maße sind relativ und gelten, da ja eine Normale mit stets gleichbleibender Leucht- und Wachstumsgröße fehlte, nur für den Tag der Beobachtung.

Wachstum. Die Kulturen wurden ihrer Größe nach in einer Reihe aufgestellt und von der kleinsten anfangend bis zur größten fortfahrend mit 1+, 2+, 3+, 4+ usw. bezeichnet, wobei natürlich 4+ nicht heißt: viermal so groß wie 1+, sondern nur vierte Größenordnung einer Reihe, die bei 1+ anfängt.

Leuchten. Die beliebig lange Reihe der Größengrade beim Wachstum begrenzte ich hier auf vier (+, ++, +++, ++++), infolge der Schwierigkeit, den Intensitätseindruck des schwachen, nur geringe Unterschiede aufweisenden Pilzlichtes genau durch Maße wiederzugeben. Jede dieser vier Stufen war, mit ausgeruhtem Auge betrachtet, von den Nachbarstufen in der Lichtstärke deutlich verschieden. Oft schien es jedoch zweckmäßig, innerhalb dieser vier Gruppen noch weitere, kleinere Abstufungen zu machen, die zwar nicht klar ersichtlich, nach längerer Beobachtung aber doch angenommen werden konnten (z. B. ++!, ++!!).

Diese relative Einheitenreihe begrenzte ich mit je einem halbwegs absoluten Maß. Das Absolutum unterhalb der + -Stufe (!) bedeutet

die geringste, mit dem Auge oft erst nach halbstündiger Dunkeladaption wahrgenommene Lichtentwicklung. Oberhalb ++++!! liegt die Stärke 5+, die insofern absolut ist, als sie alle Leuchtförderungen umfaßt, die über die Lichtstärke der Optimalkultur auf Brot hinausgehen (p. 616).

Die ja in einer fortlaufenden Helligkeitsskala aufgestellten Kulturen (vgl. oben) wurden in Gruppen geteilt, mit der Trennung da, wo der Leuchtunterschied besonders auffallend war. Die am schwächsten leuchtende Gruppe trug dann das Zeichen + mit den weiteren Abstufungen +! und +!!, die folgende das Zeichen ++ und so fort.

c) Die Sterilisation

der Nährböden und Kolben erfolgte — dreimal halbstündlich mit einem Tag Zwischenpause — in einem gewöhnlichen Sterilisator bei 100°, also nicht unter höherem Druck und Temperatur. Etwa doch noch vorhandene Pilz- und Bakteriensporen wurden durch die günstige Temperatur eines Thermostaten zum Anwachsen gebracht und dadurch sichtbar gemacht.

d) Bereitung des Konzentrationsgefälles der Salzzusätze.

Zur Verwendung kamen 200 cm^3 Erlm.-Kolben mit zirka 20 *g* Brot, beziehungsweise 200 cm^3 Pilzagar als Nährböden. Die verschiedenen Konzentrationen in den einzelnen Brotkulturen wurden dadurch hergestellt, daß nicht destilliertes Wasser hinzugesetzt wurde (Kontrolle), sondern eine Salzlösung, die durch fortgesetztes Verdünnen mit destilliertem Wasser in ihrem Prozentsatz variiert wurde. Für die gelatinösen und flüssigen Substrate mit bekannter chemischer Zusammensetzung galt als Grundlage folgendes Rezept:

100 *g* destilliertes Wasser	$^1/_4$ *g* $MgSO_4$
5 *g* Zucker.	$^1/_4$ *g* KH_2PO_4
1 *g* Pepton...	Spur $FeCl_2$

1·8% Agar oder 10% Gelatine.

Sollte diesem Nährboden ein zu untersuchender Stoff hinzugesetzt werden, so setzte ich die vorgeschriebene Salzmenge nur mit dem halben Wasserquantum an (doppelprozentig), in der andern Hälfte befand sich dann — auch doppelprozentig — der in Frage stehende Stoff. Beim Zusammengießen der beiden doppelprozentigen Lösungshälften folgert demnach der vorgeschriebene Prozentsatz.

3. Allgemeines über das Leuchten.

a) Erscheinungsformen des Leuchtens.

In der Natur, in Mitteleuropa, tritt uns das Pilzlicht im sogenannten leuchtenden Holz entgegen. Nach meinen Erfahrungen kann man zwei Erscheinungsformen unterscheiden. Einmal ist das Licht auf einzelne scharf begrenzte Stellen beschränkt oder aber das

Holz erstrahlt in seiner ganzen Ausdehnung in gleichmäßig diffusem Licht. Bei genauerer Untersuchung kann man bei der ersten lokalisierten Art des Leuchtens die Lichtquelle immer in einer Rhizomorpha des *Agaricus melleus* feststellen, die man herausschneiden und so dem Holz sein Leuchtvermögen nehmen kann. Im zweiten Falle zeigt erst eine ganz genaue makroskopische oder noch besser mikroskopische Untersuchung, daß das ganze Holzstück von unendlich fein zerteilten jungen Mycelsträngen des Hallimasch durchwoben ist, so daß es den Anschein hat, als leuchte das Holz selbst in allen seinen Teilen.

Dies diffuse Licht der jungen Mycelien im noch verhältnismäßig festen Holz ist auch bedeutend stärker als das des Dauermycels, der Rhizomorpha, im schon mehr morschen.

Das *Mycelium x*, das mir Prof. Molisch zur Verfügung stellte, konnte ich auf natürlichem Substrat nicht beobachten; auf künstlichen Unterlagen zeigt es infolge der gleichartigen Ausbildung des Mycels auch ein gleichmäßig diffuses Licht.

Das Licht des Hallimasch auf künstlichem Nährboden hat nicht einen so einheitlichen Charakter; es ist an mehreren Stellen durch dunkle Flecke unterbrochen. Dies rührt wohl daher, daß beim *Agaricus melleus* Mycel und Rhizomorpha nebeneinander vorhanden sind, die selbst verschieden stark leuchten (cf. oben).

b) Relative und absolute Leuchtförderung.

Wird Brot als Nährboden gewählt, so sind die Fälle einer auffallenden Leuchtförderung sehr selten. Das Brot ist eben schon an und für sich ein so günstiges Nährsubstrat, daß hier das Pilzlicht nur durch die am allerstärksten fördernden Stoffe gesteigert werden kann. Wegen ihrer Seltenheit habe ich diese Lichtstärke mit einem besonderen Maßzeichen versehen (5+).

Sie ist so groß, daß keine vollständige Finsternis nötig ist, um sie zu beobachten. Schon im Halbdunkel macht das starke Licht sich bemerkbar und ist mit ausgeruhtem Auge unter 100 andern leuchtenden Kulturen auf den ersten Blick herauszufinden.

Aus diesen Ergebnissen der Brotversuche und auch daraus, daß ich bei all meinen — im ganzen über 650 — Versuchen auf verschiedensten Nährböden und unter verschiedensten Bedingungen, keinen einzigen Fall weiß, wo das Leuchten stärker war, glaube ich schließen zu dürfen: Das Pilzlicht einer Kultur auf Brot mit destilliertem Wasser unter günstigsten Außenbedingungen erreicht fast das absolute Maximum des Lichtes unserer beiden einheimischen Leuchtpilze.

Demnach liefern die Versuche mit z. B. Agar oder Gelatine als Substrat nur Ergebnisse mit relativer Leuchtförderung. Wenn also im speziellen Teil über Förderung, respektive Schwächung durch ein Salz gesprochen wird, so gilt das relativ zu einer Kontrolle, in

der der betreffende Stoff nicht oder in anderer Konzentration oder Verbindung enthalten ist, nicht als absolut gefördert bis zur höchst möglichen Lichtintensität.

c) Verschiedene Gesichtspunkte der Leuchtförderung.

Im Laufe meiner Untersuchungen stellte es sich heraus, daß es unvollständig, oft auch falsch ist, die Förderung nur nach der Stärke des Lichtes zu beurteilen. Eine Abänderung des Substrats, Temperatur usw. hat auch Einfluß auf die Dauer des Leuchtens — einer Kultur und auf den Leuchtbeginn nach der Impfung. Die obere Temperaturgrenze und der Konzentrationsbereich, innerhalb dessen Leuchten zu beobachten war, schwanken je nach Salzzusatz. Endlich der Prozentsatz der tatsächlich leuchtenden Kulturen wird besonders durch die Temperatur beeinflußt.

4. Allgemeines über das Wachstum.

a) Mycelium x.

Vom *Mycelium x* ist im Gegensatz zum Hallimasch nur eine Wuchsform bekannt und bei allen untersuchten Nährböden, die nach chemischer Zusammensetzung und mechanischer Struktur grundverschieden waren, konnte ich immer nur die eine Ausbildung als weißes, pelziges Mycel beobachten.

Von dieser »Normal«form konnte ich zwei Abänderungen feststellen, die meistens unter Einwirkung fördernder Stoffe auftraten. Zunächst gewisse Stimulantien (Cu, Zn) beeinflussen das Wachstum dahin, daß der pelzige Charakter stark betont wird. Das Mycel wächst nicht mehr scheiben- oder kreisförmig in der Ebene, sondern in den Raum hinaus kugelförmig.

Das Gegenstück zu dieser Wuchsform ist die zweite Variante: Die Decke wird dichter und seidenglänzend, fast asbestartig. Den Höhepunkt erreicht diese dichte Ausbildung in einer Art von »Neuwuchs«.

Für gewöhnlich stirbt der Pilz ab, wenn er die ganze zur Verfügung stehende Substratmasse übersponnen und ausgelaugt hat. In einzelnen Fällen (bei Zusatz von KNO_3, Ce, Champignonextrakt) zeigten sich auf der alten, scheinbar schon toten Mycelmasse kleine, zuerst stecknadelkopfgroße Pünktchen, die allmählich größer wurden und eine Lebens- und Lichtdauer von über 300 Tagen (p. 612) erreichten. Der erste Gedanke, irgendwelche Geschlechtsorgane vor sich zu haben, erwies sich als irrig, nachdem eine mikroskopische Untersuchung in diesen »Neuwuchs«pünktchen nur die gewöhnlichen, allerdings sehr dicht gedrängten Pilzhyphen fand.

b) Agaricus melleus.

Die Frage, wann die eine und wann die andere Wuchsform des Hallimasch ausgebildet wird, ist nicht so leicht zu entscheiden. Das Anfangsstadium, nachdem die Sporen auf den Nährboden geimpft sind, ist jedenfalls immer das Mycel. Rhizomorphen fand ich dann bei allen untersuchten Substraten mit Ausnahme von Kartoffel-

knollen, Flüssigkeiten unter der Oberfläche und Agar- und Gelatineböden. Nur in zwei Fällen erhielt ich auch auf Agar das Dauermycel, und zwar beide Male bei Zusatz eines für *Agaricus melleus* stark fördernden Stoffes, nämlich von Pflaumendekokt und Fructose.

Diese beiden Ausnahmen und die gute Ausbildung auf Brot, das ja auch ein hervorragendes Nährmedium für diesen Pilz ist, ließen mich annehmen, daß bei der Rhizomorpha-Entwicklung der Nährstoffgehalt der Unterlage zum mindesten stark mitspielt. Anderseits, schien mir, muß man aber auch die mechanische Beschaffenheit des Substrats, die Porosität, mit berücksichtigen, und zwar wegen der gegebenfalls besseren Durchlüftung mit Sauerstoff. Hiefür sprechen die Befunde über das Ausbleiben des Dauermycels unter einer Flüssigkeit[1] und auf den doch sicher kompakten Kartoffelknollen trotz des guten Nährgehaltes. Auch in der Natur traf ich Rhizomorphen nur in morschem Holz, das Mycel aber auch in frischerem und festerem (p. 598).

Ob der Nährgehalt des Substrats oder die Sauerstoffzufuhr für die Ausbildung der *Rhizomorpha* ausschlaggebend ist und wie die beiden Faktoren voneinander abhängen, wurde keiner genaueren Untersuchung unterzogen.

Zur vollen Entwicklung müssen allerdings noch beide Wuchsformen nötig sein, denn Fruchtträger hatten nur die Kulturen, in denen beide Stadien vertreten waren und außerdem starben die Versuche mit z. B. Kartoffel als Substrat ungewöhnlich früh ab.

Eine weitere auffallende Erscheinung beim Wachstum des *Agaricus melleus* ist die Bräunung des anfangs weißen Mycels und der Rhizomorpha. Dieses Chromogen, das bei O_2-Zutritt die Farbe verändert, wird auch ausgeschieden. Auf gelatinösen Nährböden z. B. wird rund um das Impfstück der umgebende Agar braun gefärbt, und die Bräunung vergrößert sich mit dem Wachstum des Pilzes.

Es scheint so, als ob diese Ausscheidung bis zu einem gewissen Grad schädigend auf den Pilz selbst wirkt. Denn bei Überimpfung eines Hallimaschstückes auf frischen Nährboden bräunt sich zuerst die Unterlage, und es tritt nicht selten der Fall ein, daß der Pilz überhaupt nicht anwächst. Man kann es vermeiden, indem man nur ganz geringe Mengen von Pilzsubstanz überträgt.

5. Vergleich von Wachstum und Leuchten.

Bei der Frage der Abhängigkeit des Wachstums und Leuchtens voneinander stellte sich bei meinen Untersuchungen eindeutig heraus: Das Wachstum ist vom Leuchten völlig unabhängig.[2] Und zwar ist es so zu verstehen, daß alle Faktoren, die den Lebenserscheinungen irgendwie eine Grenze setzen, auf das Leuchten stärker wirken als auf das Wachsen. Der Bereich innerhalb der Grenzen ist daher für das letztere größer.

---

[1] H. Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl., 1912, p. 39.

[2] Derselbe, p. 114 und 128.

Z. B. setzt bei niederer Temperatur (zirka 16°) das Leuchten oft erst am 30. Tag nach der Impfung ein (p. 621), obwohl das Wachstum schon eine Größe erreicht hatte, die bei höherer Temperatur längst von Leuchten begleitet war. Mit anderen Worten: Junge, lebenskräftige Mycelien können 30 Tage lang sich vermehren und ausbreiten, bevor sie Licht ausstrahlen.

Ähnlich liegt der Fall bei hohen Temperaturen: 32° schädigt die Lichtentwicklung außerordentlich, oft bis zum Erlöschen (p. 619), während der Einfluß auf das Wachsen nicht im entferntesten so stark ist.

Auch die Konzentrationen der zugesetzten Stoffe wirken begrenzend, und aus sämtlichen Tabellen der Arbeit ist ersichtlich, wie der Pilz noch bei einem Salzgehalt lebt und wächst, der bereits kein Leuchten mehr zuläßt. (K_2SO_4: Wachstumsgrenze 5·5%, Leuchtgrenze 5%; NH_4NO_3: 2·5% gegen 0·5%; $ZnSO_4$: 0·005% gegen 0·01%.)

Gewisse, mehr oder minder ungünstige Substrate, wie Normalagarböden, ermöglichen wohl ein Wachsen, aber oft tritt während der ganzen Lebensdauer keine Spur von Leuchten auf.

Am Schluß der Vegetationsperiode, nachdem die Lichtentwicklung aufgehört hat, ist der Pilz noch lange lebensfähig (d. h. abgeimpfte Stücke bilden neue Hyphen aus). Solche »schlafende« Wuchsfelder können durch Wundreiz (p. 618) auf kurze Zeit wieder zum Leuchten erweckt werden.

Immer, auch bei den vorteilhaftesten Lebensbedingungen tritt das Wachstum vor dem Leuchten auf und dauert länger an. Als frühester Termin wurde von mir einmal der achte Tag nach Beginn des Wachsens festgestellt. Also nie gleichzeitiger Beginn. Letzteres wäre zu erwarten, wenn Wachsen und Leuchten eng voneinander in Abhängigkeit ständen.

In bezug auf die Lage der Optimalkonzentration stimmen Wachstum und Leuchten im allgemeinen überein. In einzelnen Fällen scheint es so, als ob sie differieren. Ob dieser Befund den Tatsachen entspricht, ob er durch die unzulängliche Methodik oder die unregelmäßige Reaktion der Pilze auf anorganische Stoffe überhaupt begründet ist (p. 617), bleibt dahingestellt. Daß jedenfalls eine Abweichung möglich ist, zeigen die Versuche über die Abänderung der Kohlenstoffquelle (p. 613) ganz deutlich.

6. Vergleich von Mycelium x und Agaricus melleus.

Die Gegenüberstellung der beiden untersuchten Pilze ergibt keine prinzipielle Abweichungen in ihrem Verhalten gegen die verschiedenen Substrate, Temperaturen usw., sondern die Unterschiede sind rein quantitativer Natur.

Die Leuchtdauer des Hallimasch gegenüber der des *Mycelium x* ist bedeutend kürzer. (Beispiele: Fructose: *A. melleus* 43 Tage, *Mycelium x* 65 Tage; Brot: 50/95 Tage; KNO_3: 30/80 Tage.)

Als Erklärung mag dienen, daß der Hallimasch auf günstigem Substrat bald Rhizomorphen bildet, die nicht oder nur schwach leuchten (p. 598). Jedoch auch Agarnährböden, die die Rhizomorphenentwicklung mehr oder weniger hindern, zeigen die kurze Dauer.

Zweitens ist die Leuchtstärke[1] des *Agaricus melleus* wesentlich geringer als beim *Mycelium x*. Voraussetzung natürlich immer, gleiches Alter, gleiche Außenfaktoren usw. Diese Herabminderung der Leuchtstärken geht in den Grenzkonzentrationen der Salzzusätze so weit, daß beim Hallimasch schon die Lichtentwicklung verhindert wird, während sie für *Mycelium x* noch vorhanden ist. Hieraus ergibt sich dann zwanglos ein neuer Unterschiedspunkt: *Mycelium x* hat immer einen größeren Konzentrationsbereich als *A. melleus*.

Ein wesentlicher Punkt ist die weniger deutliche Reaktion des Hallimasch auf die verschiedenen Versuchsbedingungen. Ist es beim *Mycelium x* schon nicht ganz leicht, den Einfluß z. B. der Konzentrationen eines Salzes festzulegen, so wird es beim *A. melleus* oft fast unmöglich. Die Fälle waren durchaus nicht selten, in denen eine Kultur überhaupt kein Leuchten zeigte, trotz guten Wachsens und trotz eines Salzgehaltes, der das Leuchten nicht zu unterbinden brauchte. Für *Mycelium x* trifft dasselbe zu, wenn auch nicht in so ausgedehntem Maße. Molisch[2] gibt der Bemerkung von Schmitz[3] recht, das Leuchten sei auch von der inneren Konstitution abhängig.

Vielleicht hängt dies zusammen mit der größeren Empfindlichkeit des *A. melleus* gegen gewisse »schädliche« Einflüsse. Eine zufällige Infektion mit Fäulnisbakterien hemmt das *Mycelium x* lange nicht so sehr, und auch die »giftige« Wirkung der Ammoniumsalze (p. 606) ist auf *A. melleus* unvergleichlich viel stärker.

Ein Fall, wo *Mycelium x* und *A. melleus* prinzipiell voneinander abweichen, wurde bei Änderung der Kohlenstoffquelle beobachtet (p. 610): Der Hallimasch leuchtet besser bei Anwesenheit von Fructose, *Mycelium x* besser bei Glyzerin. Auch die Versuche auf Pflaumendekoktagar (p. 617) zeigen eine starke Leuchtförderung für *A. melleus*, so daß es den Anschein hat, als sei der Fruchtzucker ein besonders vorteilhafter Nährstoff, speziell für diesen Pilz.

Stimmen sonst die Resultate beider Pilze nicht überein, so liegt es daran, daß der Hallimasch durch seine zweifache Ausbildungsart des Mycels sehr an das Substrat gebunden ist (p. 598). Wird die Rhizomorphenentwicklung begünstigt, ist das Leuchten schwächer, im anderen Fall stärker. Für *Mycelium x* kommt dieser Faktor nicht in Frage.

B. Spezieller Teil.

I. Anorganische Einflüsse.

Allgemeine Einleitung.

Eine Übersicht sämtlicher Substratabänderungen ergibt, daß alle organischen Stoffe stärkeren Einfluß haben als die anorganischen. Dort sind die Ergebnisse deutlich und scharf ausgeprägt nach der

---

[1] H. Molisch, Leuchtende Pflanzen. Verl. Fischer, Jena, II. Aufl., 1912, p. 43.
[2] Derselbe, p. 29.
[3] J. Schmitz, Über den Bau, das Wachstum und einige besondere Lebenserscheinungen der *Rhizomorpha fragilis* Roth., Linnaea 1843, p. 487

positiven oder negativen Seite hin. Die anorganischen Zusätze dagegen geben oft zu Mißdeutungen Anlaß, weil ihre Wirkung selten klar abgestuft herauskommt.

1. Alkalikationen ($Na^{\cdot}$, $K^{\cdot}$, $NH_4^{\cdot}$).

Die Leuchtbakterien leuchten, wie Molisch[1] nachwies, am besten bei Zusatz von 3% NaCl oder einer andern osmotisch gleichwertigen Substanz. Die erste Frage zur Untersuchung bei den Leuchtpilzen war daher: Brauchen die Leuchtpilze auch einen bestimmten Prozentsatz Alkalisalz, der als osmotischer Faktor wirkt und von dessen Vorhandensein das Leuchten abhängt? Die weiteren Fragen nach der Optimalkonzentration, der Konzentrationsgrenzen, die nach unten und oben dem Wachstum und Leuchten gesetzt sind, und der Gegenüberstellung der drei untersuchten Alkalikationen ergaben sich von selbst.

Die Versuche wurden auf Brot und Normalagar angesetzt. Brot enthält schon unberechnete Mengen dieser Salze, zum wenigsten NaCl, so daß die Ergebnisse betreffs Optimalkonzentrationen und Wuchs-, beziehungsweise Leuchtgrenzen auf Brot und Agar selbstverständlich abweichen. Bei Brotkulturen ist die zugesetzte Salzlösung, die eben noch Wachstum gestattet, immer weniger konzentriert als bei den Agarkulturen, weil eben die im Brot schon vorhandene Salzmenge sich mit der zugesetzten addiert.

Wachstum: Bei allen untersuchten Alkalisalzen war die untere Konzentrationsgrenze gleich 0. Als Einschränkung gilt aber, daß dieser Nullpunkt nicht absolut anzunehmen ist, da die Nährlösungen ohne die exaktesten Vorsichtsmaßregeln bereitet wurden, d. h. ohne die Salze vorher von den etwaigen geringsten Verunreinigungen zu

Tabelle I.

Salz	Obere Grenze Agar Wachst.	Obere Grenze Agar Leucht.	Wachstum Agar Optima	Wachstum Agar Kontrolle	Leuchten Agar Optima	Leuchten Agar Kontrolle
NaCl	4·5%	2·5%	0·5%	$\geqq$ Ktr.	0·5/1%	$\geqq$ Ktr.
KCl ..	4·5	3	0·5	$\geqq$ Ktr.	0·5/1	$\geqq$ Ktr.
			fallend ab			
NH_4Cl ..	2·5	1	0·05	= Ktr.	0·1	= Ktr.
Na_2SO_4 ...	5	5	0·05/1	> Ktr.	0·5/1	> Ktr.
K_2SO_4	5·5	5	0·05/1	> Ktr.	0·5/1·5	> Ktr.
			fallend ab			
$(NH_4)_2SO_4$ ...	4	3	0·05/1	= Ktr.	0·05/1·5	= Ktr.
$NaNO_3$.	5	4	zirka 1	> Ktr.	0·5/2·5	> Ktr.
KNO_3 ..	5	5	» 1	> Ktr.	0·5/3	> Ktr.
			fallend ab			
NH_4NO_3 ..	2·5	0·5	0·05	< Ktr.	0·01	= Ktr.

[1] Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl., p. 105 ff.

säubern, und da das Brot schon Alkalisalz enthält. Nach oben zu hörte das Wachstum zwischen 4 und 5% auf. Ammoniumsalze machten eine Ausnahme und fanden ihre obere Grenze schon um 3% herum (Tab. I).

Innerhalb dieses Wuchsbereiches gilt auf Brot für Chloride und Sulfate: Je kleiner die Konzentration, desto stärker das Wachstum. Die Nitrate weisen eine geringe, aber deutliche Förderung bei zirka 0·1/1·5% auf. Bei Agarnährböden wird die Wachstumssteigerung auch auf Chloride und Sulfate ausgedehnt. Ammonium fällt aus der Reihe. Seine Optima übersteigen nie die Größe der Kontrolle, sind eher kleiner als sie (Tab. I).

Leuchten: Die Grenzlinien des Leuchtens verlaufen ganz gleichlautend mit denen des Wachsens. 0% ist — mit der erwähnten Einschränkung — auch hier die geringst mögliche Konzentration. Die obere Grenze liegt zwischen 2·5 und 5%. Die Ammoniumausnahme trifft zu: NH_4NO_3 erreicht hier sogar schon bei 0·5% seine Maximalkonzentration. Mit diesen Ergebnissen erledigt sich die erste Frage, daß nämlich ein bestimmter, als osmotischer Faktor wirkender Prozentsatz für das Leuchten unnötig ist, und daß die Leuchtpilze damit in Gegensatz zu den Leuchtbakterien stehen. Auch bei ihnen handelt es sich wohl nur um eine Anpassung an die 3% NaCl im Meerwasser, da Leuchtbakterien gefunden wurden,[1] die des osmotischen Drucks, der einer dreiprozentigen NaCl-Lösung entspricht, nicht bedürfen.

Die Feststellung des Konzentrationseinflusses mit einer eventuellen Förderung in seinem Optimalfall begegnete bei den Brotkulturen großen Schwierigkeiten. Schon die Tatsache, daß mehrere Kontrollkulturen (ohne Salzzusatz) oft stark in ihrer Leuchtgröße voneinander abwichen, erschwerte den Vergleich sehr. Und gar ein deutlich ausgeprägter Einfluß des variierten Salzgehaltes war fast nie zu beobachten. Der schwankende Gehalt an Alkalisalz, der im Brot schon vorhanden ist, fälscht eben sehr das erwartet klare Ergebnis.

Eine Förderung im Sinne einer Erhöhung der Lichtstärke konnte bei den Chloriden und Sulfaten nirgends eindeutig beobachtet werden, wohl aber eine Verlängerung der Leuchtdauer, früheres Beginnen, größerer Widerstand gegen hohe Temperatur usw. (bei K- und Na-Salzen). Diese Optima lagen etwa bei 0·05 bis 0·5%.

Bei den Nitraten (mit Ausnahme von Ammoniumnitrat) trat außer dem ebenerwähnten noch ein zweites Optimum bei zirka 1·5 bis 2·5% auf. Hier wird das Leuchten sehr stark, oft bis zur »absoluten Stufe« gesteigert.

Auf Agar als Unterlage zeigte sich, daß alle Salze mit Ausnahme der des Ammons fördernd wirken. Und zwar liegt der Optimalbereich der Chloride um 0·5%, der der Sulfate um 1% und der Nitrate um 2% herum (Tab. I). Demnach beruhen also die günstigen

---

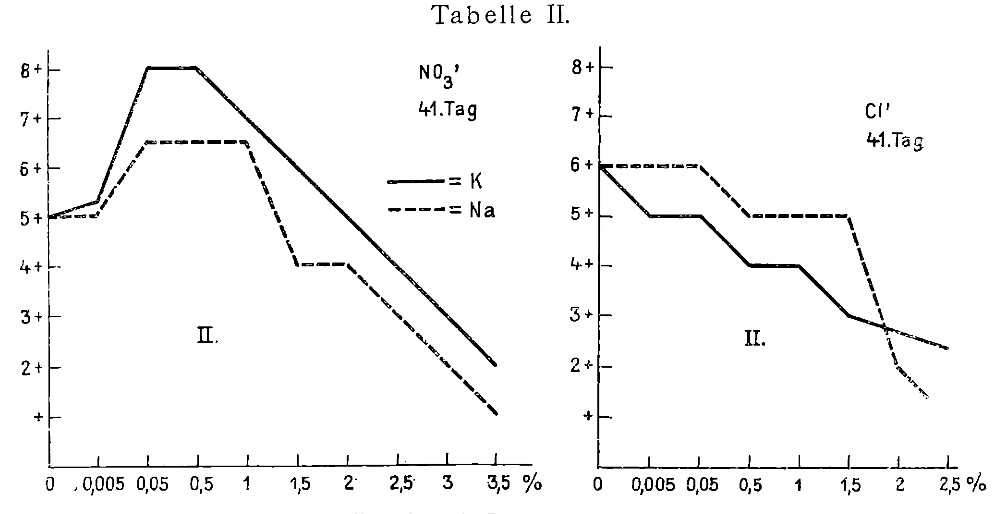
[1] Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl., p. 110.

Eigenschaften des Brotes als Nährmedium — zum Teil wenigstens — auf dem Gehalt von rund 1 % Alkalisalz.

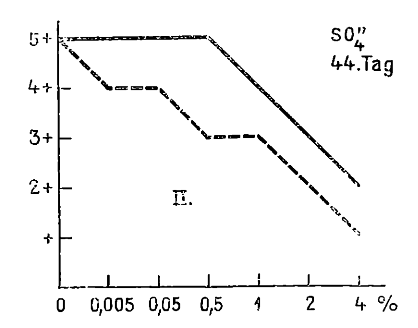
Soweit die Versuchsergebnisse; es bleibt noch zur Besprechung übrig die Gegenüberstellung der drei untersuchten Alkalikationen.

Aus dem Gesagten geht schon hervor, daß sich Na˙ und K˙ in ihrem Verhalten mehr oder minder ähnlich sind, daß $NH_4^{\cdot}$ aber in

Tabelle II.



In den graphischen Tabellen sind die Prozentangaben der Platzersparnis wegen schematisiert.



jeder Beziehung ganz abseits steht. Doch auch diese beiden so gleichwertigen Kationen lassen in mannigfacher Hinsicht eine Unterscheidung zu. Bezüglich des Konzentrationsbereiches in Wachstum und Leuchten z. B. sagen alle Resultate (Tab. I) einstimmig aus, daß die obere Grenze der K-Salze stets höher liegt als die der entsprechenden Na-Verbindung. Diese Eigenschaft, gegen hohe Konzentrationen des K gewissermaßen widerstandsfähiger zu sein, äußert sich auch auf andere Weise. Werden die Wachstumsbeobachtungen eines Tages von gleichalterigen K- und Na-Kulturen graphisch dargestellt, so ergibt sich immer, daß die Wachstumskurve des K

um ein bis zwei Einheiten höher liegt, also einen größeren Wert hat als die des N. Einzig die Chloride scheinen abzuweichen, wo sich auf Brot die Kurven zugunsten des NaCl verschieben, um allerdings in den höheren Konzentrationen sich wieder zu kreuzen (Tab. II). Ob diese Abnormalität mit dem NaCl-Gehalt des Brotes zusammenhängt oder vielleicht irgendein Zufall ist, konnte ich an Hand meiner Versuchsergebnisse nicht feststellen.

Infolge der Tatsache, daß die Leuchtergebnisse sich nie so scharf ausprägen wie die des Wachstums, ließ sich hiefür die oben angeführte graphische Aufstellung nicht durchführen. Man kann lediglich einige Anhaltspunkte geben, die allerdings alle das K höher werten: So ist die zweiprozentige KNO_3-Kultur diejenige, welche bis zur »absoluten« Stufe fördert, nicht so sehr $NaNO_3$. Weiter: Vergleicht man die Aufzeichnungen eines Versuchstages, so sind im allgemeinen die gefundenen Lichteinheiten für K größer als für Na. (NaCl auf Brot macht auch hier eine Ausnahme.) Besonders deutlich tritt dies in den kritischen oberen Konzentrationsbereichen zutage, die für Na eben noch, für K aber ein gutes Leuchten ermöglichen.

Als Schluß ergibt sich also für die drei Kationen: Fördernd wirken K und Na, und zwar in dieser Reihenfolge. NH_4 verhält sich bei geringprozentigem Zusatz neutral, ein höherer Gehalt schwächt.

Nach den Erfahrungen der *Mycelium-x*-Kulturen auf Brot wurde *A. melleus* wegen seiner weniger zuverlässigen Reaktion (p. 602) nur auf Agar gezogen. Grundlegende Unterschiede ließen sich nicht beobachten. Die NH_4-Salze wirken hier noch viel schwächender als auf *Mycelium x* (p. 602). Beim Nitrat und Chlorid wurde während der ganzen Untersuchungsdauer in keiner der angesetzten Konzentrationen von 3—0·05% ein Leuchten beobachtet; beim Sulfat nur ganz spärlich.

2. Die Anionen: Cl', NO_3', SO_4''.

Die Gesichtspunkte, nach denen bei dem Vergleich der Anionen vorgegangen wurde, sind die gleichen wie bei den Kationen; als Grundlage dient die Tabelle I.

In bezug auf die Grenzsetzung zeigen alle Ergebnisse eindeutig die Reihenfolge: $SO_4'' > NO_3' > Cl'$. Z. B. ist die obere Wuchsgrenze bei K_2SO_4 5·5%, bei KNO_3 5% bei KCl 4%. Dieselbe Skala trifft auch für die Na- und NH_4-Salze und für das Leuchten zu.

Ein Vergleich der Lage der Optima weist nicht so klare Verschiedenheiten auf. Die Leuchtagarresultate machen noch am deutlichsten auf die fallende Linie aufmerksam: NO_3 (zirka 2%) $> SO_4''$ (zirka 1%) $> Cl'$ (zirka 0·5). Auf Brot drückt es sich ähnlich aus, und auch die Wachstumskurve zeigt dieselbe Beziehung mehr oder minder deutlich.

Wird der Grad der Förderung unter Betracht gestellt, so tritt die gleiche Anordnung zutage: Nitrat führt, Sulfat steht in der Mitte und Chlorid am Schluß.

In den Tabellen scheint es wegen der relativen Darstellungsweise so, als ob Nitrat und Sulfat auf gleicher Stufe ständen. Wenn man aber den Grad der Förderung mit in Betracht zieht, ist dem Nitrat unbedingt der Vorzug zu geben.

Wie bei den Kationen das $NH_4^{\cdot}$, weil es schwächt, so nimmt hier das Nitrat eine gewisse Sonderstellung ein. Es war auffallend, daß die einmal festgestellte stark fördernde Wirkung dieses Anions nicht regelmäßig auftrat, sondern entweder ganz ausbleibt, bald zu Anfang, bald zu Ende der Untersuchungszeit sich zeigte, oder daß das niederprozentige Optimum stärker leuchtete als das zweiprozentige. Außerdem sind die $2^0/_0$ Nitratkulturen gegen 31° sehr wenig widerstandsfähig und erholen sich schwer. (Durchwegs zeigt eine Optimalkonzentration einen gewissen Widerstand gegen die Temperatur von 31° [p. 619].)

Für diese Unregelmäßigkeiten fand ich nach meinen Überlegungen folgende Erklärungsmöglichkeiten: Während Sulfat und Chlorid nur in einer Eigenschaft, gleichgültig, ob als Nährsalz oder osmotischer Faktor, auf den Pilz wirken und daher verhältnismäßig einheitliche Resultate geben, kann man bei den Nitraten noch die Reduktion zu Nitrit mit in Betracht ziehen. Für diese eventuelle Reduktion nahm ich als Optimum das zweiprozentige an. Erstens, weil es rein zahlenmäßig von den übrigen Optimen bei SO_4'' und Cl' abweicht ($0\cdot05$ und $0\cdot5^0/_0$), dann aber schloß ich es auch aus einem Nebenversuch.

Die Richter'schen Versuche wiesen anärobes Leuchten von Bakterien mit Hilfe von Nitratzusatz nach. Er zeigte, daß Stichkulturen von Leuchtbakterien (also unter Luftabschluß) leuchten, wenn der Nährmaße Nitrat zugesetzt wurde. In Analogie hiezu wurden von mir halbgefüllte, schräg erstarrte Agareprouvetten mit *Mycelium* geimpft, bis sie etwa nach drei Wochen genügend gewachsen waren und leuchteten. Dann schichtete ich auf diese Kulturen frische, sterile Agarmasse, die mit wechselndem Nitratgehalt versetzt war. Ohne Zusatz erlosch dann das Leuchten etwa 5 Minuten nach Überschichtung, $0\cdot5^0/_0$ Nitrat unterhielt es sehr schwach 2 Stunden und $2^0/_0$, allerdings etwas geschwächt, über drei Tage. Wenn auch diesen Versuchen sicherlich viele Unzulänglichkeiten und Fehlerquellen anhaften, glaubte ich doch meine Annahme, daß das eventuelle Reduktionsoptimum bei zirka $2^0/_0$ liegt und daß der frei werdende Sauerstoff die stärkere Förderung bedingt, in gewisser Weise gestützt.

Es wären also gewissermaßen zwei Kräfte vorhanden, die gegeneinander streiten, das Nitrat als Nähr- oder osmotisches Salz und das Nitrat als O_2-Lieferant. Die jeweilige Resultante, das ist die tatsächlich beobachtbare Kurve, weist dann nach außen hin die Unregelmäßigkeiten auf, die je nach dem Kräfteverhältnis zugunsten des einen oder des andern sprechen.

Daß das Nitrat zum mindesten auf zwei verschiedene Arten wirkt — wenn man schon die Erklärung als Reduktion nicht zulassen will —, wird des weiteren durch die Abweichungen gestützt, die das Ammonium in der Anionengegenüberstellung macht: NH_4 schwächt in höheren Konzentrationen, anderseits tritt die auffallende Nitrat-

---

[1] O. Richter, Bakterienleuchten »ohne Sauerstoff«. Festschrift für Hans Molisch »Planta«, p. 569 bis 587.

förderung erst bei 2% auf. So kommt es, daß bei der Koppelung NH_4NO_3 die Nitratsteigerung nicht beobachtbar war, eben weil in dem erforderlichen Prozentsatz wegen des NH_4 das Leuchten schon unterbunden war. Die Reihenfolge der Anionen kehrt sich demnach für die NH_4-Salze um, in Hinsicht der Grenzsetzung als auch der Optimumlage und Förderung: $SO_4'' > Cl' > NO_3$.

3. Einige fragliche Stimulanten (Cu, Zn, Fe, Mn).

Bei allen Lebewesen hat sich als gesetzmäßige Wirkung der Gifte herausgestellt: In großen Dosen töten sie, in kleineren hemmen sie und steigern schließlich in minimalsten Mengen die Lebenstätigkeit. Die Förderung auch für das Leuchten der Leuchtpilze nachzuweisen, war die Aufgabe der folgenden Versuche:

Von eventuellen anorganischen »Giften« wurden die Metalle Zn, Cu, Mn, Fe gewählt. (Letzteres gehört ja aber auch und vielleicht in erster Linie zu den lebensnotwendigen Stoffen.)[1] Die untersuchten Konzentrationen lagen zwischen 2% und eintausendmillionstel (10^{-9})%. Die Form, in der die Metalle zugesetzt wurden, war das Sulfat, weil dieses Anion nach den besprochenen Ergebnissen am geeignetsten erschien.

Wachstum: Die Konzentration, die gerade noch ein Wachstum zuläßt, war bei den einzelnen Metallen auffallend verschieden. Nach ihrer »Giftigkeit« geordnet, ergab sich für Cu der Wert 0·05%. Es folgt Zn und Fe mit 0·1 und 0·5% und endlich Mn läßt noch über 2% hinaus ein Wachsen zu. Von allen vier Kationen zeigte keines einwandfrei eine deutlich stimulierende Wirkung, wenn man allein den Radius des Wuchsfeldes zur Größenbeurteilung heranzieht. Bei Zn- und Cu-Zusätzen aber wurde das »normale« Wachstum, das gewissermaßen zweidimensional, scheibenförmig ist, dreidimensional, kugelförmig. Demnach kann man in diesem Sinne doch von einer Wachstumssteigerung durch Cu und Zn reden.

Die erwähnte Reihenfolge der Metalle trifft auch für die Lage des Optimums zu. Cu, das »giftigste« Metall, hat sein Optimum am tiefsten (bei einmillionstel Prozent), dann folgt Zn eine Dezimalstelle höher. In großem Abstand kommt darauf Fe mit dem Wert von zirka einhundertstel Prozent und schließlich Mn, dessen Optimalkonzentration bei 1—0·5% liegt. Während Zn und Cu echte Stimulanten sind, kann man beim Eisen schon schwanken, ob sein verhältnismäßig hoch gelegenes Optimum auf Stimulation oder einer andern Wirkungsweise beruht. Mangan scheidet jedenfalls durch diesen Befund sicher aus der Reihe der »Gifte« aus.

Leuchten: Die »Giftigkeitsreihe« von Cu nach Mn ist die gleiche (von Cu 0·01 bis Mn 1%). Wie bei den Alkalisalzen ließ sich bezüglich der Lage des Optimums auch hier keine restlose Klarheit schaffen. Zur Bestimmung mußte man die schon erwähnten

[1] Vgl. H. Molisch, Die Pflanzen in ihren Beziehungen zum Eisen. 2. Aufl., 1892, Fischer, Jena.

Beihilfen, wie Beginn, Dauer usw. heranziehen. Als Zusammenfassung ergaben sich dann folgende Werte in obiger Anordnung: Mn — 0·5%, Fe — 0·001%, Cu — 0·001%. Für Zn ließ sich trotz wiederholter Versuche und Beobachtung aller Nebenfaktoren keine Klarheit gewinnen. Festgestellt konnte lediglich werden, daß der ganze Bereich von 0·001 bis 0·000001 zur Optimalzone gehört.

Das einzig nicht leuchtfördernde unter den vier Metallen ist das Eisen. Es ist in allergeringsten Mengen lebensnotwendig. Diese Quantität konnte aber mit der angewandten Methode nicht abgezirkelt werden (p. 596) und außerdem ist vor allen Dingen in den benutzten Unterlagen (Agar und Brot) und in den Chemikalien sicher Fe in genügender Konzentration vorhanden, so daß ein weiterer Zusatz ohne Wirkung blieb.

Für Mangan wurde schon nach den Wachstumsergebnissen festgestellt, daß es nicht in die Reihe der Stimulanten gehört. Auch seine zeitweilige, nicht ganz klare Leuchtförderung bei dem relativ sehr hohen Optimum von 0·5% stützen die Annahme, daß die Steigerung durch irgendeine andere spezifische Wirkungsweise hervorgerufen wird.

Kupfer, nach den bisherigen Feststellungen das »giftigste« Metall ließ die weitgehendste Leuchtförderung erwarten. Aber es verhält sich wie Mangan. Die Steigerung tritt nur zeitweise und nie mit schlagender Beweiskraft auf, wenn auch die Intensität Mn gegenüber an jedem Beobachtungstage deutlich stärker war.

Für Zink dagegen ließ sich die Stimulation einwandfrei feststellen. Zweimal (bei 0·0001% und 0·000001%) konnte ich Förderung bis zur »absoluten« Stufe beobachten und ebenso zweimal (0·001 und 0·000001%) Leuchtdauer bis zum 300. Tag mit »Neuwuchs«. Damit wurde für Zn die größtmögliche Steigerung durch Stimulation nachgewiesen.

Agaricus melleus verhält sich in allen Punkten gleichlautend mit *Mycelium x*. Die Sonderstellung des Zinks wurde sogar noch deutlicher ausgeprägt in einem Falle, wo alle Kulturen infolge eines Versehens durch Fäulnisbakterien verunreinigt waren. Die Fe-, Cu- und Mn-Versuche und die Kontrollen leuchteten wegen der Infektion nicht; die Zn-Kulturen aber zeigten trotz der Bakterien als einzige, und zwar in den Konzentrationen 0·001—0·00001% deutliches Leuchten.

II. Organische Einflüsse.

1. Einwirkung von Fremdpilzen und Bakterien.

Daß z. B. *Penicillium* sp. in eine Plattenkultur von Leuchtbakterien gebracht, an den Berührungspunkten der Wuchsfelder das Leuchten fördert, beziehungsweise erneuert, ist seit den Untersuchungen von Molisch[1] bekannt.

---

1 Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl., p. 121.

In Parallele hiezu stellte ich eine große Anzahl von Versuchen auf mit der Absicht, die gleiche Erscheinung auch bei den beiden Leuchtpilzen nachzuweisen, mit der doppelten Fragestellung:

1. Werden alte, erloschene, aber noch lebende Kulturen durch Hinzufügen von Fremdpilzen wieder leuchtend?

2. Hat ein Fremdpilz auf leuchtende Kulturen von *A. melleus* und *Mycelium x* einen fördernden Einfluß?

Der Leuchtpilz befand sich auf Brot. An Fremdpilzen untersuchte ich: *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* und eine *Mucor*-Art.

Zunächst stellte sich heraus, daß die Fremdpilzimpfungen auf alten Kulturen entweder nicht, oder nur sehr spärlich anwachsen und dann auch bald wieder absterben. Ich versuchte daher größere Mengen von Fremdpilzsporen und -hyphen zu überimpfen, aber mit dem gleichen Ergebnis. Daß hieran der Feuchtigkeitsmangel nicht schuld war und auch nicht eine eventuelle Undurchdringbarkeit des Mycelüberzugs für die Sporen zeigten weitere Experimente, in denen einerseits dem Impfmaterial steriles Wasser zugesetzt, anderseits dieses auf die Unterseite der von Pilzfäden durchwucherten Brotmasse gebracht wurde, wo die Myceldecke nicht so dicht ist wie an der Oberseite. Auch diese Versuche liefen negativ aus. Schließlich, um einem etwaigen Nährsalzmangel abzuhelfen, versetzte ich die alten Kulturen mit normalem Pilzagar. *Penicillium* und *Aspergillus* wuchsen gut an, starben aber ab, sobald ihre Hyphen den Leuchtpilz erreichten, und der frische Nähragar durch austretende Stoffe aus der Brotmasse »vergiftet« wurde. Irgendein Wiederaufleuchten konnte ich nie beobachten, auch dann nicht, wenn beide Pilze sich berührten.

Der Grund für das schlechte Anwachsen ist wohl nicht so sehr der hohe Säuregehalt der alten Kulturen — weil die Omnivoren *Penicillium* und *Aspergillus* noch an viel größere Säuregrade angepaßt sind —, als vielmehr Stoffwechselprodukte des Leuchtpilzes, die in den frischen Agar übergehen und dann den Fremdpilz zum Absterben bringen.

Ebenso lieferten auch die Versuche, die die zweite Frage betreffen, ein negatives Resultat. Werden Leucht- und Fremdpilz zu gleicher Zeit geimpft — der Fall, der immer eintritt, wenn durch Zufall eine Neukultur infiziert wird —, so kann man nie eine Förderung, im Gegenteil eine Hemmung von Wachstum und Leuchten feststellen, weil der Leuchtpilz sofort überwuchert wird.

Um diese Überwucherung zu vermeiden, muß man mit der Übertragung des Fremdpilzes warten, bis der Leuchtpilz sich genügend entwickelt und bis seine Lichtausstrahlung begonnen hat. Dann werden infolge des viel schnelleren Wachstums von z. B. *Penicillium* zwei ungefähr gleich große Wuchsfelder entstehen, die sich an vielen Stellen berühren und auch überwachsen. Nie konnte ich einen Einfluß des Fremdpilzes beobachten. Zwar hörte das Leuchten nicht auf, aber eine Förderung, die sich an den Berührungspunkten der beiden Pilzfelder hätte zeigen müssen, trat

nie ein, im Gegenteil eher eine Schwächung. *Penicillium* wurde zu diesen Versuchen verwendet, *Mucor* und sogar beide übereinander.

Um dem Einwand zu begegnen, daß die Förderung zu gering sei, als daß sie auf einer kräftig leuchtenden Kultur zu bemerken wäre, zog ich Kulturen heran, die trotz genügender Größe nicht oder nur schwach leuchteten. Aber auch hier war das gleiche Ergebnis zu verzeichnen. Auch eine Impfung mitten ins Wuchsfeld eines jungen, leuchtenden Mycelrasens hatte dasselbe Ergebnis. Der Fremdpilz wuchs schlecht an, starb bald ab und hinterließ keinerlei Spuren. Bei allen Versuchen verhielten sich *Mycelium x* und *A. melleus* gleich.

Zur Ergänzung wurde noch die dritte Frage angeschnitten: Haben umgekehrt Bakterien einen Einfluß auf das Leuchten? Die Versuchsanordnung war so wie bei den Pilzen, nur daß die Reaktion der Nährböden neutral oder sehr schwach alkalisch gehalten wurde, um Bakterien und Leuchtpilzen gleichmäßig ein gutes Wachstum zu ermöglichen. Geimpft wurden die Fäulnisbakterien *B. liquefaciens*, *B. putidum*, *B. flavescens*, und zwar nach 30 Tagen, so daß der Leuchtpilz sich genügend vorher entwickeln konnte. Pilz- und Bakterienkolonien breiteten sich aus und berührten sich, doch war der Einfluß des Fremdorganismus auch hier eher schädigend als begünstigend.

2. Einfluß von toter Pilzsubstanz.

Die Beobachtungen über die Leuchtförderung durch Guttationstropfen (p. 624) zeigen, daß das *Mycelium x* imstande ist, durch Zusatz eigener Säfte sein Leuchten zu erhöhen. Im Versuch müßte danach ein Zusatz toter Pilzsubstanz eine Förderung erwarten lassen. Zur Ergänzung dieser Frage und zu der über den Einfluß lebender Pilze, wurde nicht nur die eigene, sondern auch fremde Species (*A. melleus, Psalliota campestris*) als Zusatz verwendet.

Um erstens ein Konzentrationsgefälle in den Versuchsreihen herzustellen und zweitens einer Zerstörung gegebenenfalls in Frage kommender Stoffe vorzubeugen, beziehungsweise sie zu beschleunigen, wurde folgendermaßen variiert:

1. Das trockene Brot wurde mit einem Extrakt des betreffenden Pilzes durchtränkt.

2. Der Pilz wurde in einer Reibschale verrieben und mit Brotbrei vermengt.

3. Abgekochte Pilzstücke bildeten ohne Brot den Nährboden.

4. Ungekochte, rohe Pilzstücke lieferten ohne Brot die Nährunterlage.

In diesen vier Nährböden steigt die Konzentration der Pilzsubstanz von 1 bis 4; eventuell hitzeunbeständige Stoffe sind unter 1 am weitesten zerstört, dann folgt 3. Unter 3 und 4 kommt nur die Sterilisationswärme in Betracht. Diese Aufstellung ist in ihrer Abstufung natürlich nicht genau. Ein Extrakt und ebenso eine Mischung von

Pilz und Brot sind auf keine exakten Maßeinheiten zu bringen und lassen daher weitgehend Einwände und Korrekturen zu.

Das Wachstum von *Mycelium x* auf diesen Nährunterlagen zeigt in allen drei Fällen eine klare Beziehung zu dem Konzentrationsgefälle: Es nimmt ab mit steigender Konzentration. Eine Förderung wird deutlich nicht sichtbar, am ehesten noch bei Zusatz »*Myc. x* Nr. 1«. Bei Zusatz »*Psal.* Nr. 1« nur in dem Sinne, daß die Myceldecke auffallend dicht ist und »Neuwuchs« eintritt. Die Impfungen auf den Pilz ohne Brot wuchsen nur sehr spärlich oder überhaupt nicht an.

Die Ergebnisse über das Leuchten zeigen erstmals, daß bei Zusatz von *A. melleus* und *Mycelium x* das Optimum nicht bei der geringsten Konzentration liegt (Wachstum), sondern bei den Kulturen, die am wenigsten der Hitze ausgesetzt waren und außerdem den größten Vorrat an frischer Nährsubstanz hatten. Eine Förderung tritt nur bei dem »*Myc.-x*-Opt.« auf. Die übrigen Kulturen und diejenigen mit Zusatz »*A. melleus*« weisen Schwächung oder höchstens mit der Kontrolle gleichstarkes Leuchten auf. Bei den Impfungen auf den Pilz ohne Brot konnte kein Leuchten beobachtet werden.

Psalliota-Zusatz verhält sich anders. Hier fiel das Optimum, im gleichen Sinne wie beim Wachstum, mit der geringsten Konzentration zusammen, und zwar wurde das Leuchten bis zur »absoluten Stufe« gesteigert. Starker »Neuwuchs«, Leuchten anhaltend bis zum 230. Tag und dauernd unzweideutig stärker als die Kontrolle trifft hier zu. »*Psal.* Nr. 2« — also das Optimum bei Hallimasch — und *Mycelium-x*-Zusatz steht in seiner Leuchtstärke in gleicher Höhe mit dem *Myc.-x*-Optimum.

Zur Erklärung kann man sich folgendes vergegenwärtigen: Durch Zusatz von Pilzsubstanz, gleichgültig, ob fremd oder eigenbürtig, werden dem Nährboden zwei physiologisch sich verschieden verhaltende Stoffgruppen zugeführt: Stoffwechselabfälle und wahrscheinlich Fremdfermente. Die Stoffwechselprodukte können wie »Gifte« wirken und stimulieren, und die Fremdfermente können insofern nützen, als sie unzugängliche Stoffe aufzuschließen vermögen. Das Kräfteverhältnis der beiden Faktoren regelt die Konzentration der zugesetzten Substanz und zweitens der Grad der Fermentabstumpfung durch Hitze, beides also bei dieser Methodik unmeßbar.

Bei den klaren, eindeutigen Wachstumskurven scheinen die »Giftstoffe« in erster Linie bestimmend und begrenzend zu sein. Dort, wo die Konzentration am größten ist, ist das Wachstum auf das Mindestmaß herabgedrückt. Ob bei dem Leuchten außer dem Einfluß der »Giftstoffe« noch der der Fermente mit in Betracht kommt und ob aus diesem Grunde das Optimum des Leuchtens von dem des Wachstums abweicht, läßt sich aus diesen Versuchen nicht entscheiden.

Ein Vergleich mit den Ergebnissen des vorigen Kapitels zeigt, wie grundverschieden der Einfluß lebender und toter Pilze ist. Hier deutliche Leuchtförderung, dort trotz mannigfacher Abänderung der Impfart nicht die geringste Spur davon, eher Schädigung.

Anhangsweise sei erwähnt, daß im »Neuwuchs« (p. 599) das *Mycelium x* ja auch auf sich selber wächst ohne Schädigung und Förderung, das aber durch seine braune Ausscheidung der *A. melleus* (p. 600) wahrscheinlich gehemmt wird.

3. Änderung der Kohlenstoffquelle.

Das Rezept eines Normalpilzagars (p. 597) schreibt außer den Salzen und Pepton eine fünfprozentige Rohrzuckerlösung vor. Es wurde abgeändert, indem der Zucker durch Glyzerin einerseits und Fructose anderseits ersetzt wurde. Zur Feststellung der Optimalkonzentration wurden außerdem Kulturen aufgestellt mit der Hälfte (2·5%) und dem Doppelten (10%) des Normalgehaltes. Da nach dem Rezept 20 *g* Zucker mit 5 *g* Glyzerin im Nährwert gleichgesetzt sind, ergibt sich das Gesamtbild der Versuchsaufstellung folgendermaßen:

Rohrzucker	2·5%	5%	10%
Fructose	2·5	5	10
Glyzerin . .	2·5/4	5/4	10/4

Betreffend das Wachstum zeigten die drei in ihren Optimalkonzentrationen eine ganz klare Skala, die von Fructose über Glyzerin nach Zucker abfällt, wenn man Wachstumsdichte und Ausbreitung gleichmäßig berücksichtigt (Tab. III). Zu Anfang und bei niederer Temperatur (zirka 17°) ist das Wachstum auf Glyzerin außerordentlich spärlich. Später und bei höherer Temperatur (zirka 24°) vergrößert es sich unverhältnismäßig stark, so daß die fallende Linie nicht mehr ganz so steil, wenn auch noch deutlich ist. Die Optima innerhalb der einzelnen Konzentrationen liegen für Glyzerin bei 10/4%, für Rohrzucker bestätigt sich 5% als Optimum, und die Fructosekulturen zeigten es zwischen 2 5 und 5%. 10% ist hier deutlich kleiner (Tab. III). Für *A. melleus* gilt in jeder Beziehung das gleiche.

Tabelle III.

	Mycelium x		*Agaricus melleus*	
	Wachstum	Leuchten	Wachstum	Leuchten
Rohrzucker 10%	+	++	+	—
Rohrzucker 5% . .	3 +	++	2 +	+
Rohrzucker 2·5% . . .	2 +	+	+	+
Fructose 10%	+	+++	+	—
Fructose 5% . . .	6 +	++	5 +	+++
Fructose 2·5% .	6 +	+	3 +	++ ! !
Glyzerin 10/4% .	5 +	++++	4 +	++
Glyzerin 5/4%	4 +	+++ !	3 +	++
Glyzerin 2·5/4%	2 +	++++	2 +	+ !

Die Leuchtkurve zeigt eine deutliche Abweichung von den Wachstumsergebnissen. Die abfallende Skala lautet hier: Glyzerin > > Fructose > Rohrzucker. Dies gilt für die Zeit der größten Lebenskraft, Ausnahmen bestehen zu Anfang, wo, wie schon gesagt, das Wachstum der Glyzerinkulturen zurückbleibt und infolgedessen die Leuchtstärke zeitweise von den Fructosekulturen überflügelt wird. Ebenso verschiebt sich ganz zu Anfang das Fructoseoptimum

wegen des noch zu geringen Wachstums von 10% auf 5%. Innerhalb der Konzentration fällt das Optimum für Zucker mit dem des Wachstums zusammen. Fructose zeigt es genau entgegengesetzt und Glyzerin weist trotz der ausgeprägten Wachstumsskala im Leuchten keinen klaren Unterschied auf (Tab. III).

Man muß das Glyzerin als ein so hervorragendes Leuchtförderungsmittel ansehen, daß erstens das durch die verschiedenen Konzentrationen gegebene Wachstumsgefälle auf das Leuchten nicht einwirkt und zweitens, daß es die durch die Wachstumsbedingungen besser gestellten Fructosekulturen sogar überflügelt.

Bei *A. melleus* liegen die Leuchtoptima etwas anders, und zwar zeigen die zehnprozentigen Fructose- und Rohrzuckerkulturen wegen des zu geringen Wachstums kein Leuchten mehr, wodurch ja aber grundlegend nichts geändert wird (Tab. III). Im Einklang mit *Mycelium x* ließ sich auch hier bei den Glyzerinkulturen kein Einfluß des Konzentrationsgefälles nachweisen, obgleich es im Wachstum klar erkennbar ist. Jedoch der Vergleich untereinander zeigte deutliche Abweichung: Glyzerin hat hier nicht den ersten Platz, sondern gleichlautend mit der Wachstumskurve heißt es auch in der Lichtentwicklung: Fructose > Glyzerin > Rohrzucker (Tab. III). Das Glyzerin wird sogar zu Anfang infolge des schwachen Anwachsens von den Rohrzuckerkulturen übertroffen.

Auf *A. melleus* wirkt die Fructose unzweideutig am förderlichsten. Dies kommt auch darin zum Ausdruck, daß die fünfprozentige Optimalkonzentration als eine der ganz seltenen Fälle auf gelatinösem Substrat Rhizomorphen zur Ausbildung kommen läßt.

4. Verschiedene organische Unterlagen.

Der Gegenstand der Untersuchungen waren die verschiedenen organischen Substrate, wie sie am häufigsten für Nährböden Verwendung finden: Brot, Kartoffel, Reis, Normalpilzlösung als Brühe oder mit Agar oder Gelatine versetzt, Pflaumendekoktgelatine und für den besonderen Fall der Leuchtpilze noch eine Holzextraktgelatine. Sämtliche acht untersuchten Substrate sind in ihrem Einfluß auf Wachstum und Leuchten so grundverschieden, daß ein Vergleich, welches stärker oder schwächer wirkt, fast zur Unmöglichkeit wird.

In ihrer quantitativen und qualitativen chemischen Zusammensetzung sind sie, mit Ausnahme der Normalnährböden, mehr oder minder unbestimmt und voneinander stark verschieden. Ebenso ist auch die mechanische Struktur, die Korngröße und Porosität nur bei den halbstarren Unterlagen ähnlich. Als drittes kommt hinzu, daß ein Extrakt ein sehr unbestimmtes Maß hinsichtlich der Konzentration ist.

Wachstumseinflüsse: Brot steht unbestreitbar an erster Stelle. Unter der Temperatur von 16° folgen dann die andern in der in Tabelle IV angegebenen Reihenfolge, und zwar so, daß der Abstand untereinander nie sehr groß ist, oft sind sie gleich. Deutlich ist der Unterschied nur zwischen Holzextrakt und den übrigen. Bei der erhöhten Temperatur von 28° verschieben sich

Pflaumendekokt und Kartoffel zugunsten des zweiten und ein großer Unterschied zwischen Reis und den »höherwertigen« Substraten entsteht.

Leuchten: Der einzige Nährboden der eine Sonderstellung einnimmt, ist die Holzextraktgelatine. Auf ihr zeigte sich nie eine Lichtentwicklung. Daß überhaupt kein Leuchten möglich ist, ist damit nicht erwiesen. Aber sie gehört jedenfalls nicht zu den günstigsten Nährböden, wie sich annehmen ließ, weil Holz ja das Substrat ist, in und auf dem der Pilz in freier Natur wächst. Durch das Abkochen sind wahrscheinlich die in Frage kommenden Stoffe zerstört worden.

Leuchtbeginn und -dauer: Aus dem Vergleich geht klar hervor, daß die halbfesten und flüssigen Nährböden alle frühere Beginnzeiten haben als die festen. Hier liegen sie um den 25., dort um den 15. Tag. Auch die Zahlen betreffs der Dauer zeigen den Unterschied der zwei Arten von Substraten. Gelatinöse und flüssige ermöglichen das Leuchten bis längstens zum 70. Tag, bei den festen erlischt es erst nach 80 bis 100 Tagen.

Die Daten verstehen sich nicht als absolute Maße, auch nicht als Durchschnittszahlen, sondern als die Ergebnisse eines Versuches bei 18° Ihr Wert besteht nur in der Vergleichung der einzelnen Substrate miteinander.

Von den halbstarren und flüssigen Substraten hat die günstigste Stellung die Normalgelatine mit frühestem Beginn und längster Dauer, es folgen dann Brühe und Normalagar. Unter den festen läßt sich eine solche Stufenfolge nicht geben. Man kann lediglich Reis als das unvorteilhafteste hinstellen. Wenn man hienach die sieben Unterlagen in eine Zusammenfassung bringen will, so lautet sie etwa folgendermaßen:

Halbstarre und flüssige Substrate (Vorteil: früher Beginn).

Gelatine > Brühe > Agar, Pflaumendekokt steht abseits.

Feste Substrate (Vorteil: lange Dauer).

Brot $\gtreqless$ Kartoffel > Reis.

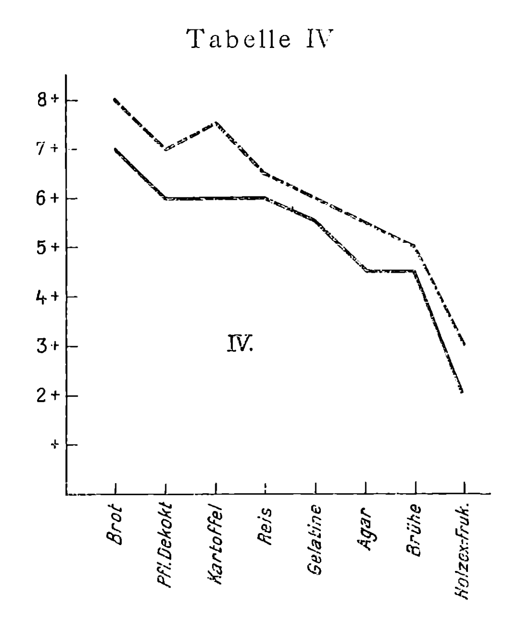
Die Stellung der Nährböden hinsichtlich der Intensität des Lichtes war nicht bis in alle Einzelheiten klar und scharf zum Ausdruck zu bringen. Man unterscheidet am besten drei Gruppen: Brot, Kartoffel, Pflaumendekokt einerseits an führender Stelle, Normalgelatine und Reis in der Mittellage und zum Schluß Brühe und Normalagar. Mit meinen Maßeinheiten versehen, trägt die erste das Zeichen +++, die zweite ++ und die dritte das Zeichen +. Also in Worten: Die drei Stufen sind in ihrer Leuchtintensität deutlich verschieden. Innerhalb der beiden ersten Gruppen ist eine Anordnung schwer erkennbar; die Unterschiede sind nur sehr gering, oft verschwinden sie ganz, ja es kann eine Rangordnung auftreten umgekehrt, wie sie eben aufgezählt wurde. Nur der Vergleich zwischen Brühe und Normalagar in der dritten Gruppe entscheidet in allen Fällen zuungunsten des letzteren.

Obige Aufstellung über Beginn und Dauer steht mit dieser über die Intensität nicht in Widerspruch. Reis steht dort unter den

festen Substraten an letzter Stelle, hier auch; ebenso bleibt die Skala Gelatine > Brühe > Agar in der Intensitätskurve erhalten.

Der vorteilhafteste Nährboden ist demnach das Brot. Im günstigsten Fall kann die Lichtentwicklung fast bis zur »absoluten« Höhe gesteigert werden (p. 597). Außerdem ist das Brot das einzige Substrat, auf dem »Neuwuchs« und bei Zn- und Cu-Zusatz »kugeliger Wuchs« beobachtet wurde (p. 608). Diese Eigenschaften machen es zu der besten Unterlage, wenn es auf möglichst starke und langdauernde Lichtentwicklung ankommt. Soll dagegen eine Abstufung z. B. durch Zusatz verschiedener Salze klar herauskommen, so ist Normalagar, das ungünstigste Substrat, zweckmäßiger, weil hier eine größere Steigerungsmöglichkeit gegeben ist. Kartoffel steht in seiner

Tabelle IV



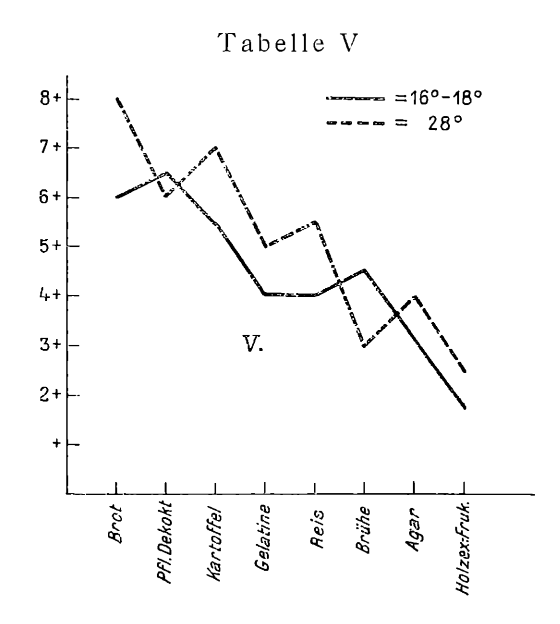
chemischen Zusammensetzung dem Brot sehr nahe (Stärke!), die Ergebnisse fallen daher auch ähnlich aus. Die große Erhöhung durch Pflaumendekokt beruht wohl auf seinem Gehalt an Fruchtzucker und die Versuche über Rohrzucker und Fructose (p. 613) geben hiezu die Parallele. Der Vergleich der Normalnährlösung als Brühe einerseits oder mit Agar oder Gelatine anderseits ergibt das interessante Resultat, daß Gelatinezusatz das Leuchten fördert, Agarzusatz es hemmt, wenn man die Brühe (ohne Zusatz) als Kontrolle gegenüberhält.

Der Einfluß auf Wachstum und Lichtintensität verläuft gleichsinnig. Die Abweichungen erklären sich, weil einerseits feste Nährböden durchwegs das Wachsen mehr begünstigen als gelatinöse und flüssige und anderseits halbstarre Böden durch höhere Temperaturen mehr angegriffen werden. Die *A. melleus*-Wachstumskurve

bei 28° (Tab. V) macht dies besonders deutlich. In drei Fällen zeigt sie eine deutliche Senkung, nämlich immer, wenn ein gelatinöses Substrat neben einem festen steht, beziehungsweise ein flüssiges neben einem halbstarren. Es ist der graphische Ausdruck für die Beeinträchtigung bei 28°

Die übrigen Abweichungen erklären sich aus dem grundverschiedenen Wachstum des *A. melleus* auf den untersuchten Substraten. Kartoffeln gestatten zwar ein üppiges Wachsen, doch keine Rhizomorphenausbildung und bedingen früheres Absterben, Pflaumendekokt überragt oft das Brot in seiner Förderung, im Gegensatz zum *Mycelium x* und läßt ausnahmsweise auf gelatinöser Unterlage Rhizomorphenentwicklung zu, in vollster Übereinstimmung mit

Tabelle V



den Ergebnissen über die Abänderung der C-Quelle (Fructose p. 613). Die Ausbildung des Pilzes auf Reis hat ebenfalls seine besondere Note: die Hyphen und Dauermycelstränge sind äußert spärlich, fast unsichtbar, die Abscheidung des braunen Stoffes ist aber sehr groß, so daß das Wachstum eigentlich nur an der Größe des Bräunungsradius festzustellen war. Endlich zeigt anders als bei *Mycelium x* die Brühe gegenüber Normalagar einen größeren Wert. Die Entwicklung der submers lebenden Pilzstränge ist nämlich sehr ausgedehnt. Vielleicht rührt es nur daher, daß sie durch die Flüssigkeit aufgelockert werden und infolgedessen einen größeren Raum einnehmen. Rhizomorphen wurden unter der Oberfläche nicht ausgebildet (p. 600).

Diese Erscheinung, daß sozusagen fast jedes Substrat seine eigene Wuchsform ausbildet, ist selbstverständlich auch nicht ohne Einfluß auf das Leuchten von *A. melleus*. Früher Beginn und kurze

Dauer, als Eigenschaften gelatinöser Nährböden, treten auch hier in Übereinstimmung mit *Mycelium x* auf. Doch kommt noch ein zweites Moment dazu, das im selben Sinne wirkt, nämlich die Ausbildung von starken Mycelwuchs und wenig oder keinen Rhizomorphen. Das Mycel entwickelt sich vor den Rhizomorphen (Beginn), leuchtet stärker und stirbt früher ab (Dauer) (p. 598). Kartoffel tritt demnach in Hinsicht des Einflusses auf Beginn und Dauer in die Reihe der gelatinösen Substrate. Die flüssige Normallösung wirkt auf *A. melleus* wegen seiner allgemein größeren Empfindlichkeit gegen störende Faktoren (p. 616) bis zu einem gewissen Grad hemmend, so daß bei diesen Nährböden das Leuchten später einsetzt und länger ausharrt als bei *Mycelium x* und infolgedessen sich die Reihenfolge der Normalsubstrate in Gelatine > Agar > Brühe ändert.

Eine Intensitätskurve aufzustellen, ist für den Hallimasch unmöglich. Die drei vorteilhaftesten Unterlagen sind jedenfalls Brot, Pflaumendekokt, Kartoffel. In der Mitte stehen Gelatine, Brühe, Agar und am Schluß, in Abweichung von *Mycelium x*, Reis. (Vgl. das Wachstum auf Reis.)

III. Andersartige Einflüsse.

1. Wundreiz.

Es fiel mir mehrfach auf, daß Stammkulturen des *Mycelium x*, von denen abgeimpft worden war, stellenweise stärker leuchteten als vor der Impfung. Bei eingehender Untersuchung stellte sich dann immer heraus, daß das stärkere Leuchten auf die Stellen beschränkt war, die durch den Impfspatel angeschnitten waren. Aber die Art der Feststellung, ob das stärkere Leuchten wirklich von der Wundstelle ausgeht, war nicht einwandfrei, da man ja notgedrungen zu diesem Zweck das Licht dauernd ein- und ausschalten muß, wodurch die Urteilskraft des Auges selbstverständlich sehr leidet.

Es wurden darum Versuche angesetzt, bei denen die Verwundungsstelle schon im Dunkeln sichtbar und ein Vergleich im Licht unnötig wurde. Etwa zehn Kulturen verschiedenen Alters und auf verschiedenen Nährböden wurden durch einen Stahlspatel verwundet, indem Kreuze, Sterne u. dgl. in den Mycelrasen eingeritzt wurden. War wirklich die Verwundung der Grund zu stärkerem Leuchten, dann mußten — auch im Dunkeln — die Wundfiguren auf normal leuchtendem Grund sich deutlich abheben. Die trat auch ein, und zwar so deutlich und sicher, daß der Versuch zu 100% immer gelang. Das Wundlicht beginnt schon nach 10 Minuten sichtbar zu werden, nimmt allmählich zu, bis es nach zirka 5 bis 8 Stunden sein Maximum erreicht und flaut schließlich ab, so daß nach zirka drei Tagen der Zustand vor der Verwundung wieder erreicht ist. Noch ein weiteres Ergebnis zeitigten die Versuche: Auf einer zirka 40 Tage alten Kultur ist die Mitte, weil älter, meistens schon erloschen. Wird jedoch die Wundfigur in diesen Bereich mit hineingeschnitten, so leuchten die »schlafenden« Hyphen wieder auf und

selbst zehn Monate alte, noch lebende Kulturen, die den »Neuwuchs« gezeigt hatten (p. 599), konnten durch Verwundung zu 50% wieder zum Leuchten erweckt werden.

Es scheint daher unzweifelhaft, daß die Verwundung wenigstens den äußeren Anlaß zu dieser Leuchtförderung gibt, wenn nicht gar der Wundreiz« — in der Deutung, die man dem Worte sonst in der Pflanzenphysiologie gibt — die Ursache ist. Man müßte dann für die Hyphen des *Mycelium x* annehmen, daß entweder der hypothetische Leuchtstoff in größerer Menge sich bildet oder seine Oxydation vergrößert wird.

Der Annahme, daß an der Wundstelle durch ungewöhnlich schnelles Wachstum neue Hyphen gebildet werden, die dann besonders stark leuchten, möchte ich entgegenhalten, daß erstens nach meinen Erfahrungen ganz junge Mycelien von *Mycelium x* überhaupt nicht leuchten. Dann müßte das Wachstum wirklich ganz außergewöhnlich schnell vor sich gehen, weil die ersten Anzeichen des Wundlichtes schon nach 10 Minuten auftreten und schließlich spricht dagegen sein schnelles Abflauen. Neu gebildete Hyphen wären auch nach drei Tagen noch relativ viel jünger als die sie umgebende Mycelmasse und müßten dementsprechend stärker leuchten.

Ein zweiter Einwand, die Spur Fe, die von dem Spatel übertragen werden könnte, sei der Anlaß zur Leuchtförderung, wurde dadurch entkräftet, daß die Versuche, mit Glas- und Holznadeln wiederholt, dasselbe Resultat ergaben.

2. Temperatur.

Über das Verhalten des *Mycelium x* bei Temperaturänderung gibt Molisch[1] folgende Kardinalpunkte für das Leuchten an: Minimum — 1°, Optimum 15 bis 20°, Maximum 34° Bei meinen Untersuchungen stellten sich Ergebnisse heraus, die diese Daten nicht abändern, aber ergänzen. Das System der drei Kardinalpunkte, an und für sich unantastbar, ersetzte ich durch fünf Temperaturstufen, innerhalb derer die Reaktionen des Pilzes nicht wesentlich verschieden sind.

Die erste Zone umfaßt die Grade von 31 bis 34 C. Innerhalb dieser Grenzen wird das Leuchten deutlich geschädigt. Werden Kulturen mit normaler Lichtentwicklung in diese hohen Temperaturen gebracht und verbleiben dort 10 bis 20 Tage, so tritt starke Hemmung ein. Je nach Dauer, Substrat und Grad innerhalb dieser Zone wird die Lichtstärke herabgesetzt oder ausgelöscht. Bei einer Einwirkung von ein bis zwei Tagen konnte ich keine Schädigung beobachten. Hört der Einfluß auf, so brauchen die Pilze eine »Erholungszeit« von 14 bis 20 Tagen, bis das Leuchten wieder beginnt, beziehungsweise seine ursprüngliche Stärke wieder erreicht. Während dieser Zeit macht sich die Leuchtschwächung oft noch deutlicher bemerkbar, indem nachwirkend noch mehr Kulturen erlöschen.

---

[1] Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl., Fischer, Jena, p. 112.

Von großer Bedeutung, wie diese sozusagen Hitzenarkose wirkt, ist das Substrat. In den einzelnen Abhandlungen ist des öfteren darauf aufmerksam gemacht, wie sich der jeweilige Salzzusatz zu dieser »kritischen Temperatur« verhält, und es stellte sich immer (abgesehen von der Nitratförderung) heraus, daß ein Leuchten trotz der hohen Temperatur ein Anzeichen für besonders günstige Nährunterlagen ist.

Als nächste Temperaturstufen wurden von mir unterschieden: 2. zirka 26 bis 30°, das ist ein Thermostat, der auf Pilzkultur eingestellt ist; 3. zirka 19 bis 25° als durchschnittliche Zimmerwärme und 4. zirka 14 bis 18° als die Temperatur, unter der *A. melleus* und *Mycelium x* draußen im Walde wachsen und leuchten.

Selbstverständlich verschieben sich die nachfolgend zu besprechenden Daten, je nachdem die tatsächlich überprüfte Temperatur an der oberen oder unteren Grenze dieser Stufen sich befindet. Die in Tabelle VI enthaltenen Angaben wurden auf je mindestens zehn Versuchsergebnissen auf Brot als Unterlage zusammengestellt. Die kleinsten und größten der beobachteten Zahlen hielt ich fest und errechnete außerdem einen Durchschnitt. Relativ sind die Ergebnisse insofern, als z. B. Brot als Nährboden einerseits und Agar anderseits deutlich abweichende Zahlen liefern, die allerdings das Stufensystem nicht beeinträchtigen.

Hinsichtlich der Leuchtdauer tritt der Temperatureinfluß deutlich zutage. Die unter natürlichen Verhältnissen gegebene 16°-Stufe erweist sich hier als optimal mit einer Durchschnittsdauer von 105 Tagen. Für 22° errechnete ich sie mit 97 Tagen und für 28° mit 58 Tagen. Es ergibt sich deutlich der Satz: je höher die Temperatur, desto kürzer die Leuchtdauer.

Ebenso hat die Temperatur von 16° auch das Optimum für sich in der Frage nach dem Prozentsatz der leuchtenden Kulturen. Im günstigsten Falle müssen natürlich bei diesen Wärmegraden alle Kulturen leuchten, die nicht durch Art oder Konzentration der Zusätze gehindert werden. In der betreffenden Spalte in Tabelle VII ist daher auch 100% angegeben. Dadurch aber, daß dieser günstigste Fall nicht immer verwirklicht ist, sind die Durchschnittsprozente gedrückt, und in diesen herabgesetzten Ziffern kommt der Temperatureinfluß zum Ausdruck, ein Beweis dafür, daß die Temperatur auf jene unbekannte Ursachen wirkt, die bisweilen »grundlos« das Leuchten unterbinden. Die Daten sind für 16° gleich 96%, für 22° gleich 90% und für 28° gleich 75%: Mit steigender Temperatur erhöht sich die Zahl der nicht leuchtenden Kulturen bis auf durchschnittlich 25%.

Der Beginn des Leuchtens nach der Impfung ergibt folgende Durchschnittszahlen: 16° — 28. Tag; 22° — 21. Tag; 28° — 23. Tag. Danach ist die dritte Temperaturzone (18 bis 25°) die optimale; auch ein Vergleich des am frühesten und spätesten beobachteten Beginns zeigt dieselbe Abstufung (Tab. VI). Also nicht die unter natürlichen Verhältnissen normale Wärme von zirka 16° ist für ein möglichst frühes Anfangen am geeignetsten, sondern eine höhere.

Tabelle VI.

	Beginn			Dauer			Prozentsatz		
	frühester	spätester	Durchschnitt	längste	kürzeste	Durchschnitt	größter	kleinster	Durchschnitt
16°	21. Tag	31. Tag	28. Tag	125 Tage	71 Tage	105 Tage	100%	72·2%	96%
22°	10. Tag	28. Tag	21. Tag	110 Tage	68 Tage	97 Tage	100%	66·6%	90%
28°	10. Tag	31. Tag	23. Tag	90 Tage	31 Tage	58 Tage	100%	50%	75%

Der Einwand, der Größenunterschied des Wachstums sei der Grund, wird dadurch widerlegt, daß die 16°-Kulturen schon längst am 28. Tag die Größe überschritten hatten, die die 22°-Kulturen am 21. Tag hatten.

Endlich die Einwirkung auf die Leuchtstärke ist eigentlich das wesentlichste.

Aber gerade in diesem Punkt ist eine exakte tabellarische Aufstellung ungeheuer schwierig. Es genügt nicht, daß Kulturen unter gleichen Bedingungen und gleichen Alters verschiedenen Wärmegraden ausgesetzt werden. Ein Vergleich der Lichtstärken hat natürlich nur Sinn zu einer Zeit, wo der Pilz in vollster Lebenskraft steht und sein Leuchten am kräftigsten ist. Aber aus den vorstehenden Erörterungen geht schon hervor, daß zu einem Punkt, wo die 16°-Kulturen ihre größte Lichtentwicklung aufweisen, die 28°-Kulturen den Höhepunkt bereits überschritten haben, so daß eine Abwägung ungleichwertig wird. Da außerdem meine Lichtstärkenbestimmung in ihrer Abstufung immer nur für den Tag der Beobachtung Gültigkeit hat (p. 596), können auch die Ergebnisse verschiedener Tage schlecht miteinander verglichen werden. Es durften daher die Kulturen nicht gleichzeitig angesetzt werden, so daß dann aber die Zeitpunkte der größten Lebenskraft annähernd zusammenfielen.

Die überwiegende Mehrzahl der Fälle gibt der 22°-Stufe die optimale Stellung, wie in Hinsicht des Leuchtbeginns. 28° und 16° ermöglichen nur eine geringere Lichtstärke. Diese beiden letzten sind entweder gleich oder es scheint so, als ob 28° an zweiter Stelle folgt. Jedenfalls ist ein entgegengesetztes Ergebnis, bei dem 16° ein stärkeres Leuchten hervorruft, nicht verzeichnet worden. Demnach ist die Wärme, der der Pilz bei natürlichen Verhältnissen unterliegt, für die Lichtstärke nicht die günstigste. Die erhöhte von 22° und zuweilen auch noch von 28° gibt Anlaß zu stärkerer Lichtentwicklung.

Eine weitere wichtige Eigenschaft, die ich nur bei der dritten Stufe (28°) beobachten konnte, ist die Anreizung zu besonders frühem Leuchtbeginn. Werden Kulturen, die zu Anfang ihres Leben bei 16° standen, noch bevor das Leuchten einsetzt, unter Einfluß von 28° gebracht, so konnte ich zu 50% der Fälle einen Leuchtbeginn feststellen, früher, wie er sowohl bei 16° als auch bei 28° durchschnittlich aufzutreten pflegt. Weitere 25% begannen an einem Tag, der gegenüber der Anfangstemperatur verbessert scheint und für den Rest ließ sich kein Einfluß nachweisen.

Die Temperaturen unterhalb von 14°, also die fünfte Zone, wurden von mir nur wenig untersucht. Das Leuchten beginnt sehr spät, so spät, daß ich zuerst annahm, es wäre bei so tiefer Temperatur überhaupt nicht oder nur mit Anreizung durch höhere Wärme möglich. Es stellte sich aber heraus, daß der Anfang bis zu 60 Tagen (10°) hinausgezogen werden kann.

Die Hallimaschergebnisse weichen darin grundsätzlich ab, daß dieser Pilz gegen die hohen Temperaturen bedeutend empfindlicher ist. Sein Leuchtmaximum liegt wahrscheinlich auch nicht bei 34°, sondern schon bei zirka 32° Es müßte sich daher für *A. melleus* die fünfte Stufeneinteilung nach unten verschieben; wenn man sie aber beibehält, ergibt sich folgendes Bild: Die »Schädigungsstufe« beeinträchtigt das Leuchten noch sehr viel mehr. Die drei folgenden Zonen weisen in allen Fragestellungen dieselbe Skala auf: Die 16°-Zone ist Optimum und von dort fällt die Kurve über 22° nach 28° ab. Genauer umrissen liegt das Optimum bei zirka 18 bis 19°, also eigentlich auf der Grenze zwischen der dritten und vierten Stufe.

Da die Hallimasch-Versuche hauptsächlich auf gelatinösen Nährböden gemacht wurden, sind in Tabelle VII die Vergleichszahlen des *Mycelium x* auch für dies Substrat angegeben.

Tabelle VII.

	Beginn		Dauer		Prozentsatz	
	A. melleus	*Mycelium x*	*A. melleus*	*Mycelium x*	*A. melleus*	*Mycelium x*
28°	19. Tag	21. Tag	32 Tage	43 Tage	61·3%	70·3%
22°	16. Tag	17. Tag	36 Tage	57 Tage	70·3%	76·4%
16°	13. Tag	18. Tag	40 Tage	66 Tage	91·7%	94·4°

Der Leuchtbeginn des Hallimasch ist in allen Fällen deutlich früher, dafür ist die Dauer viel kürzer. Auch der Prozentsatz der nicht leuchtenden Kulturen ist für *A. melleus* höher. Es wurde schon erwähnt (p. 602), daß *A. melleus* überhaupt unregelmäßiger auf alle Versuchsfragen antwortet. Auch die größere Zahl der ausgelöschten Kulturen gehört hieher.

3. Sauerstoff.

Zu der Überzeugung, daß die Bräunung des Hallimaschmycels wesentlich, wenn nicht allein von der Sauerstoffzufuhr abhängt, kam ich durch einfache Beobachtungen: Haben die Rhizomorphen die ganze Brotmasse, auf der sie wachsen, durchwuchert, so ist die Oberseite tiefbraun gefärbt; die dem Boden des Gefäßes zugekehrte Unterseite bleibt aber rein weiß. Der Luftzutritt ist dort eben durch das darüber lagernde Nährsubstrat sehr erschwert. Kehrt man nun die aus Brot und Pilz bestehende Masse um, so daß die weiß gebliebene Fläche an den Luftsauerstoff gelangt, kann man schon am folgenden Tag die beginnende Bräunung beobachten.

Überzeugender ist eine Abänderung dieses Versuches: Man dreht dabei die Brot-Mycel-Masse nicht um 180° herum, sondern nur um etwa 45°, so daß eine Kante der weißgebliebenen Unterseite noch dem Gefäßboden aufliegt, während die gegenüberliegende hoch in den Raum gehoben ist. Hiebei kann man den Einfluß der Sauerstoffdosierung, die durch diese Stellung hervorgerufen wird, an dem Grad der Bräunung direkt ablesen. Die am weitesten emporgehobene Seite weist nach einiger Zeit tief schwarzbraune Färbung auf, und je mehr die ursprünglich weiße Fläche dem Gefäßboden genähert ist, je geringer also die Sauerstoffversorgung wird, desto lichter wird die Farbe, bis schließlich das Stück, das den Boden noch berührt, keine Veränderung mehr zeigt.

Solange die weiße Fläche von der Luft abgeschlossen war, konnte ich nirgends Leuchten beobachten, und beim Umkehren begann die Lichtentwicklung nicht sofort, sondern erst nach einem Zeitraum, der zwischen 2 und 14 Tagen schwankt. Auf natürlichem Substrat, beim »leuchtenden Holz«, traf ich eine ähnliche Erscheinung an: In etwa fünfjährigen Fichtenschonungen fand ich vereinzelt Exemplare, die im Absterben begriffen sind. Untersucht man ihre Wurzeln, so wird man fast immer zwischen Rinde und Holz das weiße Mycel des Hallimasch entdecken. In der Dunkelkammer konnte ich nie gleich nach Abschälung der Rinde ein Leuchten wahrnehmen, immer erst später. Ähnlich ist es bei den diffus leuchtenden Holzstücken (p. 598). Zerbricht man solche, bereits erloschene Stücke im Dunkeln, so tritt an den frischen Bruchstellen auch nie sofort neues Leuchten auf; im frühesten Falle konnte ich es einmal nach einer halben Stunde, im allgemeinen erst am folgenden Tag feststellen.

In allen Fällen ist der O_2-Zutritt zu dem Mycel erschwert durch die darüberliegende Rinde oder bei frischen Bruchstellen durch das umgebende Holz. Es scheint so, als ob das Nichtleuchten der von O_2 abgesperrten Mycelstücke sich nicht aus dem Sauerstoffmangel allein erklärt. Der Intervall zwischen O_2-Zufuhr und Leuchtbeginn läßt daran denken, daß der fragliche Leuchtstoff bei erschwerter Sauerstoffzufuhr nicht gebildet wird oder jedenfalls nicht in »leuchtfertiger« Form vorliegt, und daß er gewissermaßen erst entstehen muß, bevor seine Oxydation und damit sein Leuchten einsetzt. Vielleicht gehört hieher auch die Tatsache von der Molisch[1] berichtet, daß frisch gesammeltes Leuchtholz oft nicht sofort, sondern erst am folgenden oder übernächsten Tag leuchtet.

Mit der Annahme, die Menge des Luftsauerstoffs sei für das Leuchten optimal, decken sich meine Versuchsergebnisse nicht. In einen Erlm.-Kolben brachte ich »leuchtendes Holz« und führte dann reinen Sauerstoff hinzu, wodurch die Lichtentwicklung augenblicklich gesteigert wurde. Ja die winzig kleinen Splitterchen, die beim Hineinschieben des Holzstückes in den Kolben an dessen

---

[1] Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl. 1912, Fischer, Jena, p. 38.

Wänden hängen geblieben waren, leuchteten deutlich auf und machten sich dadurch im Dunkeln bemerkbar. Vor dem Versuchsbeginn konnte ich ihre Anwesenheit im Finstern nicht wahrnehmen.

4. Guttation.

Ältere Kulturen beider Pilze scheiden durch Guttation Tropfen aus, die bei längerer Dauer sich zu größeren Flüssigkeitsmengen ansammeln (vgl. auch Molisch).[1] Beim *A. melleus* konnte ich sie nur in brauner Farbe beobachten, beim *Mycelium x* in gelblicher und wasserklarer.

Bringt man Kulturen (in diesem Fall ist die Guttation nicht an höheres Alter gebunden) unter Einfluß von 28°, nachdem sie längere Zeit vorher etwa 16° ausgesetzt waren, so kann man schon am folgenden Tag feststellen, daß der ursprünglich trockenpelzige Charakter des *Mycelium x* einem glänzend-nassen gewichen ist. Die Flüssigkeit überzieht die feinen Hyphenenden und verklebt sie miteinander. Bei längerem Einfluß von 23° nimmt die Menge der Tropfen zu, und ein Vergleich mit 16°-Kulturen zeigt deutlich die stärkere Guttation bei 28°

Den Einfluß des Nährgehalts fand ich nicht so eindeutig, aber doch in einer überwiegend großen Zahl verwirklicht: Am häufigsten kommt die Flüssigkeitsausscheidung auf Brot, dem besten organischen Substrat (p. 614) vor. Außerdem fiel es auf, daß jene Kulturen am frühesten und besten guttierten, deren Salzzusatz in dem für das Leuchten optimalen Bereich lag, also die günstigste Konzentration aufwies. Ob die Guttation wirklich vom optimalen Nährstoffgehalt abhängig ist oder vom optimalen osmotischen Druck, ist damit nicht entschieden.

Eine gegenseitige Abhängigkeit von Leuchten und Ausscheidung konnte ich nicht feststellen. Es gibt sowohl Fälle mit großer Guttation ohne Leuchten, als auch mit starker Lichtentwicklung ohne die geringste Spur einer Absonderung.

Wenn dagegen die Tropfen eintrocknen, und dadurch die Konzentration der mit ausgeschiedenen Stoffe an einer Stelle vergrößert wird, kann unter Umständen eine deutliche Leuchtförderung auftreten, die streng auf den Eintrocknungspunkt beschränkt ist. Sie erscheint aber nur, wenn jene Stelle innerhalb eines jungen und leuchtfähigen Mycelbereichs liegt.

Zusammenstellung.

Der Plan der Arbeit war zu überprüfen, inwieweit die Ergebnisse über das Leuchten der Leuchtbakterien auch für die beiden Leuchtpilze *Agaricus melleus* und *Mycelium x* zutreffen. Dabei beschränkte ich mit betreffender Einwirkung des Substrats

---

[1] Molisch, Leuchtende Pflanzen. II. Aufl., p. 39.

auf die Alkalisalze, vier vermeintliche Stimulanten, Abänderung der Kohlenstoffquelle und die zu bakteriologischen Zwecken gebräuchlichsten Nährböden unbestimmter chemischer Zusammensetzung. Der Einfluß von Temperatur, Sauerstoff, Fremdpilzen und -bakterien wurde bearbeitet und endlich — ohne Beziehung zu den Leuchtbakterien — Guttation und Wundreiz. Alle Versuche gaben nebenher Gelegenheit, allgemeine Beobachtungen über Wachstum und Leuchten zu machen, beides zu vergleichen und die beiden Pilze in ihrer Reaktionsweise auf die Versuchsfragen gegenüberzustellen und eventuelle Verschiedenheiten aufzudecken.

Auf eine kurze Zusammenstellung gebracht, ergaben sich folgende wesentlichste Resultate:

1. Alkalichloride und -sulfate fördern das Leuchten in den Konzentrationen von 0·5 bis $1\,^0/_0$, und zwar K stärker als Na. Alkalinitrat fördert sehr stark in der Konzentration von zirka $2\,^0/_0$. Ammoniumsalze schwächen, bei *A. melleus* sogar ziemlich weitgehend.

2. Das Leuchten der Leuchtpilze ist unabhängig von einem bestimmten Prozentsatz von osmotisch wirkendem Alkalisalz.

3. Zn steigert Wachstum und Leuchten sehr, Cu nur zeitweise und nicht klar ersichtlich, Fe nicht und Mn fördert in so hohen Konzentrationen, daß man nicht mehr von Stimulation sprechen kann.

4. Bei den beiden Leuchtpilzen konnte keine Leuchtförderung oder Wiederaufleuchten alter Kulturen unter Einfluß von Fremdpilzen und -bakterien beobachtet werden.

5. Ein Zusatz toter Pilzsubstanz, sowohl derselben als auch fremder Spezies, kann bei *Mycelium x* eine Leuchtförderung hervorrufen, die bei z. *Psalliota campestris* eine sehr beträchtliche Höhe erreicht.

6. Zucker, Glyzerin, Fructose wirken auf das Wachstum in der Reihenfolge: Fructose $>$ Glyzerin $>$ Rohrzucker; auf die Lichtentwicklung Glyzerin $>$ Fructose $>$ Rohrzucker. Für *A. melleus* ist auch betreffs der Lichtentwicklung die Fructose das vorteilhafteste.

7. Betreffs Leuchtbeginn und -dauer verhalten sich feste Nährböden einerseits und flüssige und halbstarre anderseits verschieden. Betreffs Intensität stehen Brot, Pflaumendekokt, Kartoffel an erster Stelle. Gelatine fördert, Agar hemmt das Leuchten gegenüber der Lösung ohne Zusatz.

8. Wird ein Mycelrasen, jung oder schon erloschen, von *Mycelium x* verwundet, so wird das Leuchten an den Wundstellen deutlich gefördert, beziehungsweise wieder erweckt. Das Wundlicht beginnt nach 10 Minuten, erreicht nach 5 bis 8 Stunden sein Maximum und ist nach drei Tagen erloschen.

9. Temperatur: Die Zone von 31 bis 34° schädigt das Leuchten deutlich; die unter natürlichen Verhältnissen normale Zone von zirka 16° erwies sich optimal; jedoch kann der Beginn und die

Stärke bei *Mycelium x* durch zirka 24°, bei *A. melleus* durch 18 bis 20° stimuliert werden. Für den Grad der Schädigung durch zirka 32° ist das Substrat von großem Einfluß.

10. Sauerstoff. Die Bräunung des Hallimaschmycels ist wesentlich vom O_2 abhängig. Die Menge des Luftsauerstoffes ist für das Leuchten nicht optimal. Wird das Mycel des Hallimasch von Anfang der Entwicklung an mehr oder minder von O_2 abgeschnitten, so tritt das Leuchten bei O_2-Zufuhr nicht sofort ein.

11. Guttation: Eingetrocknete Guttationstropfen fördern das Leuchten unter bestimmten Umständen.

12. Das Licht einer Kultur auf Brot unter günstigen Außenbedingungen erreicht nahezu die überhaupt größtmögliche Intensität.

13. Die Ausbildung der Rhizomorpha bei *A. melleus* scheint vom Nährstoffgehalt des Substrats und dessen Durchlässigkeit für Sauerstoff abzuhängen.

14. Auch für die beiden Leuchtpilze stellte sich heraus, daß das Wachsen vom Leuchten unabhängig ist.

15. Die Unterschiede betreffs Wachsen und Leuchten von *Mycelium x* und *A. melleus* sind in erster Linie quantitativer Natur oder hängen mit der mehr oder minder starken Rhizomorphenausbildung des letzteren zusammen.
